

第37回麻布環境科学研究会 一般学術講演4

食品成分由来の Anti-Pain 軟膏による疼痛緩和機構の
解明について○竹鼻 志織¹, 野口 裕奈¹, 松沢 日和¹, 赤間 洋一², 島津 徳人¹, 武田 守¹¹麻布大学 生命・環境科学部 食品生理学研究室, ²総合南東北病院

【研究背景】

一般に注射・採血・点滴時の皮膚を穿刺する医療行為は疼痛を伴う。これを回避するための手段として局所麻酔用テープ剤（リドカイン）などが使用されているが、麻酔効果の発現に時間を要することおよび副作用などの欠点がある。これまでに“食品に含まれる成分”（主にデカン酸、カフェイン、炭酸カルシウムなど）を調合することにより、人において顕著な鎮痛効果を発現する **Anti-Pain (AP)** 軟膏（特許番号：5850453）が開発され、臨床の場で使用され良好な疼痛緩和効果が得られている。

このAP軟膏の鎮痛効果は皮膚塗布後1-3分で発現し、10分程度で効果が消失する可逆的な性質を持つ。AP軟膏のメリットは主成分が食品成分由来のため副作用がほとんどなく、効果の発現が速やかな点が利点であるが、現在までAP軟膏の疼痛抑制効果の発現機序が不明である。そこで本実験では、「AP軟膏の疼痛抑制機序の解明」を目的として、ラットの三叉神経系疼痛モデルを用いて解析を行った。

【方法】

- ① 行動学的解析: 実験前日に、Wistar雄ラット (B.W. 230 ~ 310 g) の顔面皮膚 (左側頬部) を剃毛した。1日後、無麻酔下でAP軟膏およびC軟膏 (デカン酸を含まない溶媒) を顔面皮膚 (剃毛領域) に塗布し、von Frey hairにより機械刺激 (非侵害・侵害) を与え、塗布前後における機械刺激に対する逃避反射閾値を測定した。(Sekiguchi et al., 2016)
- ② 電気生理学的解析: ペントバルビタールNa (45 mg/kg, i.p.) 麻酔下のWistar雄ラットの三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) を露出させた。その

後、ガラス微小電極 (2% ポンタミンスカイブルー含有 0.5M 酢酸Na) を刺入、交流アンプに接続し、顔面皮膚への von Frey hair による機械刺激 (非侵害・侵害) およびピンセットによる侵害性ピンチ刺激に応答する SpVc 広作動域 (WDR) ニューロンの細胞外単一ユニット放電 (活動電位) を導出した。これらの細胞外単一ユニット活動に対する AP 軟膏の効果を、データ解析装置 PowerLab を用いて経時的 (0, 1, 3, 5, 10 分) にポストステミュラスヒストグラムを作成することにより解析した。(Takehana et al., 2016)

- ③ 薬理学的解析: AP 軟膏の主成分デカン酸はムスカリン性アセチルコリン M₂ 受容体 (mACh M₂ 受容体) の作動薬として機能することが報告されているため (Gwynne et al., 2004), mACh M₂ 受容体遮断薬 (メトクトラミン 1 mM, i.v.) の前投与により AP 軟膏による抑制効果に影響を与えるか否かを解析した。
- ④ 免疫組織化学的解析: 顔面皮膚に蛍光色素 (Fluorogold) を注入後、この部位を神経支配する三叉神経節 (TG) ニューロンを標識した (Takeda et al., 2013)。その後、mACh M₂ 受容体抗体および有髄線維のマーカーである Neurofilament Protein 200 (NF-200) を用いて免疫組織化学的に解析を行った。

【結果】

- (1) 行動学的解析において、逃避反射閾値はAP軟膏塗布前と比較し、AP軟膏塗布後1-3分で有意に上昇し (痛覚鈍麻)、10分後に消失する可逆的な効果が確認できた ($n=7$, $p<0.05$)。また、この逃

避反射閾値の上昇はデカン酸を含まないC軟膏の塗布後では観察されなかった。

- (2) SpVc WDRニューロンの単一ユニット放電のAP軟膏塗布による抑制効果は、非侵害刺激 (von Frey hair: 1-10 g) に対しては有意な抑制効果は観察されなかったが、侵害刺激 (von Frey hair: 15-60 g, Pinch) に対し顕著に現れ、塗布後1-3分で放電頻度が有意に抑制され、10分後に回復した ($n=9$, $p<0.05$)。
- (3) 侵害刺激に応答するSpVc WDRニューロンの単一ユニット放電頻度に対するAP軟膏塗布による抑制効果は、mACh M₂受容体拮抗薬 (メトクトラミン) の前投与により有意に抑制された ($n=6$, $p<0.05$)。
- (4) 顔面皮膚を神経支配するFG標識小型TGニューロン ($<30\text{ }\mu\text{m}$: A δ /C相当) のほとんど (92%) はmACh M₂受容体免疫陽性を示し、残りの8%は中型TGニューロン (30~49 μm : A δ /A β 相当) であり、大型TGニューロン ($>50\text{ }\mu\text{m}$: A β 相当) において発現は観察されなかった。FG標識TGニューロンの約半数 (53%) は、有髄神経線維マーカーであるNF-200免疫陽性を示していた。

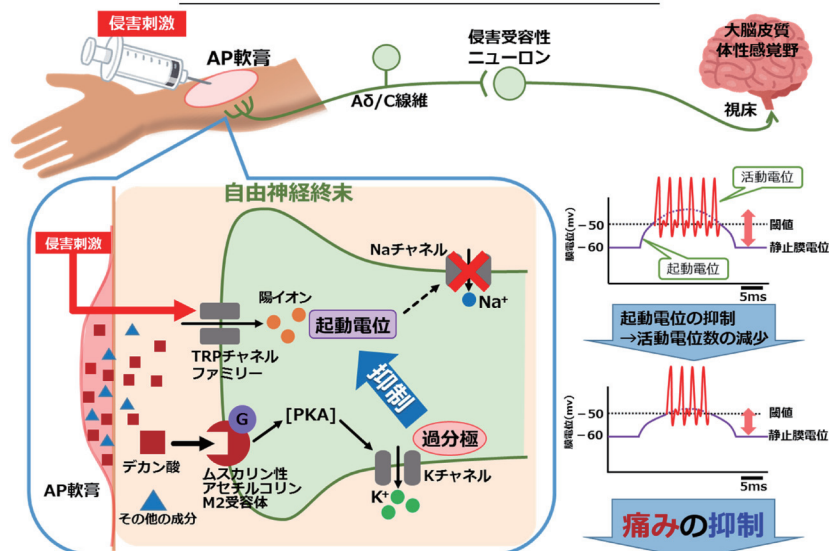
【結論と考察】

- 本実験結果により、侵害受容性小型TGニューロンの自由神経終末に存在するmACh M₂受容体がAP軟膏の主成分であるデカン酸により刺激されると、皮膚に加えられた侵害刺激に対する活動電位の発火頻度が抑制されることにより、鎮痛効果が発現する可能性が示唆された。
- 人において顕著な鎮痛効果を発現するAP軟膏の疼痛発現と消失の時間経過と本実験の結果は近似しており、AP軟膏の持つ鎮痛効果の発現機序の基礎をなす機構であると考えられる。本研究により、効果発現が速やかで食品成分由来のため副作用のない鎮痛薬として幅広く安全・適切な代替医療に貢献する科学的根拠が示された。

【文献】

- Sekiguchi et al., Mol Pain. 2016; 11: 12.
- Takehana et al., Brain Res Bull. 2016; 120: 117-22.
- Gwynne et al., J Physiol. 2004; 556: 557-569.
- Takeda et al., Mol Pain. 2013; 9, 49.
- Pan and Williams., J Neurosci. 1994; 1332-1338.
- Bernardini et al., J Neurosci. 2001; 21: 3295-3302.

AP 軟膏による鎮痛効果の発現機序 (仮説)



AP 軟膏の主成分であるデカン酸は、皮膚に塗布した後、侵害受容性自由神経終末に発現するムスカリン性アセチルコリン M₂ 受容体にリガンドとして作用する。その後、G タンパクを介した細胞内 PKA の減少や低閾値電位依存性 K チャネル促進により、静止膜電位を過分極側へシフトさせる (Pan and Williams 1994, Bernardini et al., 2001)。これにより、起動電位の振幅が減弱し、結果的に神経終末に与えられた侵害刺激に対する活動電位の放電頻度を減弱させ上位中枢 (大脳皮質体性感覚野) への疼痛シグナルを減少させ、疼痛緩和効果が発現すると推察される。